

ÁCIDO FÓLICO Y COBALAMINA

Emma Lara.

Servicio de Bioquímica Clínica, HCU "Lozano Blesa", Zaragoza.

M^a Victoria Barra.

Residente 2º año Bioquímica Clínica, HCU "Lozano Blesa", Zaragoza.

ACIDO FÓLICO

Estructura y propiedades

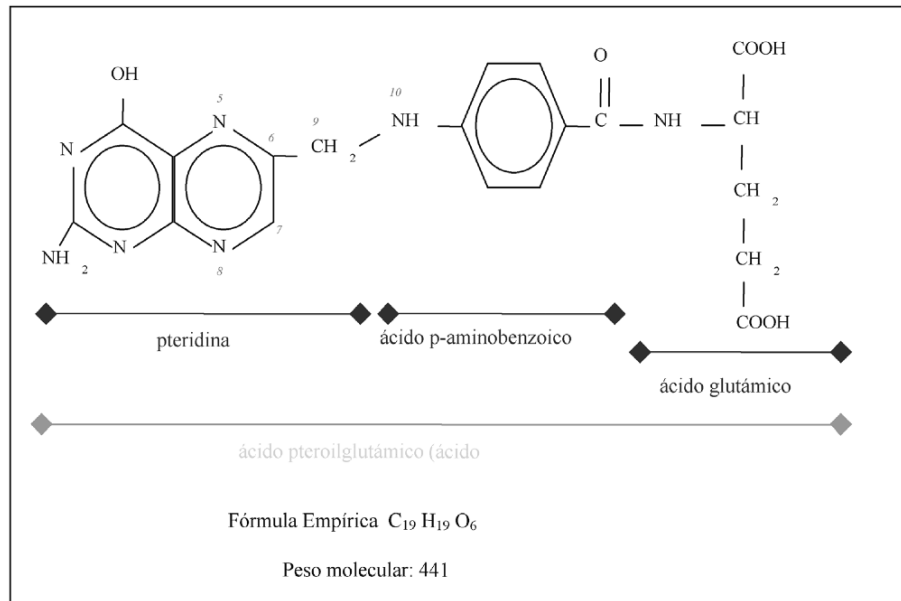
El término ácido fólico se aplica a una familia de vitámeros con actividad biológica equivalente. Dentro de la nomenclatura se pueden utilizar otros términos como folato, folacina y también vitamina B₉.

Todos los folatos tienen en común la estructura del ácido pteroilglutámico, molécula constituida por un anillo de pteridina unido por un puente metileno a un residuo de ácido p-aminobenzoico que a su vez se une por enlace amida a un residuo de ácido glutámico.

Los distintos folatos se diferencian en el anillo de pteridina, que puede presentar varias formas reducidas y varios tipos de sustituciones, y en el residuo de p-aminobenzoglutamato.

Familia de los folatos:

- Ácido pteroilglutámico, Ácido fólico.
- Dihidrofolato, (DHF) (Hidrógeno en 7 y 8)
- Tetrahidrofolato (THF) (Hidrógeno en 5,6,7 y 8)
- N⁵-formil-THF (-CHO en 5)
- N¹⁰-formil-THF(-CHO en 10)
- N^{5,10}-Metenil-THF (-CH= en 5 y 10)
- N^{5,10}-Metilen-THF (-CH₂- en 5 y 10)
- N⁵-Metil-THF (-CH₃ en posición 5)
- Monoglutamato (1 glutamato)
- Poliglutamato (n glutamatos)



El ácido fólico (ácido pteroilglutámico) se presenta como un polvo cristalino de color amarillo anaranjado. Es poco soluble en agua (0,5 g/L) pero fácilmente soluble en soluciones ácidas o básicas débiles. Es insoluble en alcohol, acetona, éter y cloroformo. El ácido fólico cristalizado es estable al calor, al aire y en solución neutra, por el contrario, es sensible a la luz, la radiación ultravioleta, los ácidos, los álcalis, los oxidantes y los reductores.

Metabolismo

Los folatos en la alimentación se encuentran en su mayor parte como poliglutamatos ligados a proteínas. En el intestino, son liberados de las proteínas alimentarias por acción de las proteasas digestivas, posteriormente, los folilpoliglutamatos deben perder sus residuos glutámicos para poder ser absorbidos a nivel intestinal.

Los monoglutamatos así formados ingresan en la célula intestinal mediante un mecanismo de transporte activo y son transferidos al plasma.

En hígado, los monoglutamatos son reducidos y metilados formándose 5-metil-THF, el cual es cedido de nuevo a la circulación desde donde llegará a todos los tejidos. En el hígado y otros tejidos la dihidrofolato reductasa cataliza la reducción a DHF y THF. Además, el hígado también almacena folatos como poliglutamatos, principalmente como pentaglutamatos. Estas reservas (en torno a 5 ó 10 mg) son suficientes para cubrir las necesidades durante aproximadamente 4 meses.

En la circulación, el 5-metil-THF se encuentra unido a proteínas, principalmente a albúmina y a una proteína de alta afinidad por los folatos, la llamada «proteína ligante de folatos» o receptor de folato.

Los folatos se distribuyen en el organismo a través de la circulación principalmente hacia tejidos de rápida división celular, como la médula ósea o la mucosa gastrointestinal. En los

tejidos de mamíferos, se encuentran principalmente como derivados poliglutamados, encontrándose los pteroilmonoglutamatos únicamente en plasma y orina.

Eliminación

Los folatos son eliminados del organismo a través de las vías fecal y urinaria.

En las heces aparecen folatos procedentes de la fracción alimentaria que no es absorbida, de la secreción biliar y de la síntesis por las bacterias intestinales. Parte de los folatos secretados en la bilis son de nuevo reabsorbidos.

A través de la orina se eliminan los folatos metabolizados como pteridinas y ácido benzoil-glutámico.

Funciones fisiológicas

Los folatos se usan como cofactores sirviendo como aceptores y dadores de unidades de un carbono en una variedad de reacciones implicadas en el metabolismo de aminoácidos y nucleótidos.

Metabolismo amino-ácido

1. Interconversión y metabolismo de Serina-Glicina

El THF es capaz de captar el grupo metilo de la serina en una reacción reversible catalizada por la serina hidroximetil transferasa que da lugar a 5,10-metilen-THF, permitiendo la interconversión de los aminoácidos a serina y glicina.

2. Metilación de la homocisteína y síntesis de la metionina

Forma parte de un ciclo citosólico de utilización de un carbono donde se produce la reducción de 5,10-metilen-THF a 5-metil-THF y la transferencia del grupo metilo a la homocisteína para formar metionina y regenerar THF. Este ciclo está catalizado por dos enzimas la 5,10-metilen tetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y la metionin sintetasa. La siguiente enzima del ciclo, metionina sintasa es una enzima dependiente de B₁₂ y cataliza la transferencia del grupo metilo del 5-metil-THF a la homocisteína.

Metabolismo nucleótido

1. Síntesis de timidilato

El folato no está implicado en la síntesis de novo de las pirimidinas pero sí se requiere para la síntesis del timidilato. La timidilato sintetasa cataliza la conversión del dUMP a dTMP, donde la unidad de carbono donada está en el estado de oxidación de formaldehído. Es la única reacción en la que el estado de oxidación del folato cambia de la forma tetrahidro a la dihidro. El DHF es inactivo como coenzima y tiene que volver a reducirse a THF en una reacción catalizada por la dihidrofolato reductasa.

2. Síntesis de las purinas

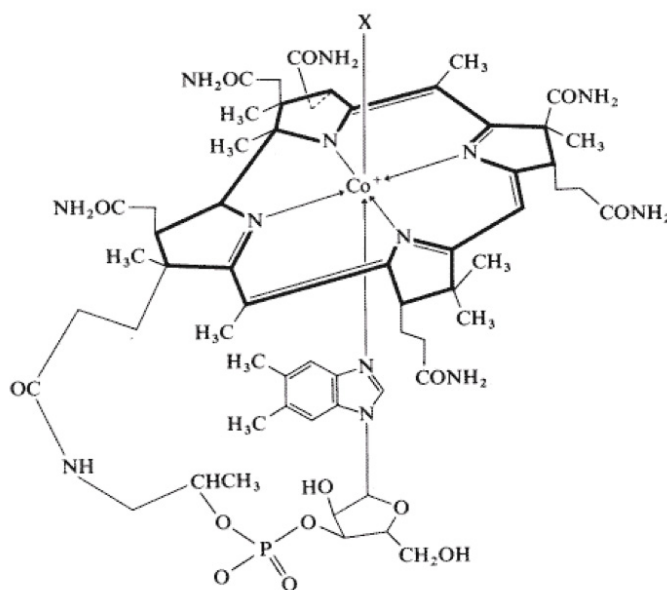
Las posiciones C2 y C8 del anillo de las purinas derivan del 10-formil-THF en la reacción catalizada por la glicinamida ribonucleotido transformilasa (GART) y la aminoimidazolcarboxamida ribonucleotido transformilasa (AICART).

Cobalamina

Estructura y propiedades:

Cobalamina, es el nombre preferido para una familia de derivados conocidos familiarmente como vitamina B₁₂.

La vitamina B₁₂ es una cobalamina (PM 1,355) que resulta de la unión asimétrica de 4 anillos pirrólicos formando un grupo macrocíclico casi planar (núcleo corrina) en torno a un átomo central de cobalto (Co). En esta estructura, el Co posee 6 valencias de coordinación, 4 de las cuales establecen enlace covalente con los correspondientes nitrógenos (N) de los anillos pirrólicos. La quinta valencia de coordinación se halla siempre unida a un pseudo-nucleótido complejo, el 5,6 dimetilbenzimidazol, casi perpendicular al núcleo y la sexta valencia al unirse a diferentes radicales origina los diversos derivados de la cobalamina:



X = CN- Cianocobalamina

X = OH- Hidroxicobalamina

X = CH₃- Metilcobalamina

X = 5' desoxiadenosilcobalamina

La hidroxicobalamina y la cianocobalamina (vitamina B₁₂) son formas no fisiológicas de la cobalamina; en el organismo se transforman de forma espontánea en metil y 5' desoxiadenosil que son las formas fisiológicamente activas o coenzimas de la vitamina B₁₂. La cianocobalamina por exposición a la luz y a los agentes reductores pasa rápidamente a la forma de hidroxicobalamina.

La mayor parte de la vitamina B₁₂ de las células y el hígado se encuentra en las mitocondrias en forma de 5' desoxiadenosilcobalamina, mientras que la metilcobalamina es la principal forma de cobalamina en el plasma, aunque pequeñas cantidades de esta coenzima se pueden encontrar en las células.

Metabolismo:

La absorción de dosis fisiológicas de cobalamina en el tracto digestivo tiene lugar casi exclusivamente en el íleon mediante dos mecanismos diferentes: Un mecanismo activo mediado por el factor intrínseco y por difusión simple independiente del factor intrínseco.

A. Mecanismo mediado por el factor intrínseco (FI)

La ingestión de un alimento que contiene cantidades fisiológicas de cobalamina, requiere de 8-10 horas para la completa absorción de la vitamina durante las cuales cabe distinguir distintas fases:

1. Liberación de las cobalaminas de las proteínas de la dieta.
2. Unión de la cobalamina al factor intrínseco.
3. Transporte por el intestino delgado hasta el íleon.
4. Unión del complejo cobalamina-factor intrínseco a receptores específicos del íleon.
5. Transporte de la cobalamina a través de las células epiteliales del intestino.
6. Liberación de la vitamina del complejo factor intrínseco-cobalamina-cubilina.

B. Mecanismo independiente del factor intrínseco

El mecanismo de difusión simple es independiente de los iones Ca^{++} y del pH, funcionando únicamente cuando se administran grandes cantidades de cobalamina.

El consumo de protectores gástricos, ampliamente usados en pacientes polimedcados se asocia a una disminución de la absorción.

Transporte de Cobalamina en Plasma

La vitamina B_{12} plasmática se une a dos proteínas, transcobalamina y haptocorrina. La transcobalamina transporta una pequeña parte de la vitamina B_{12} circulante, aproximadamente un 10 %.

La haptocorrina es una glicoproteína de función desconocida, que transporta la mayor parte de la vitamina B_{12} circulante y, además, las formas inactivas de la vitamina.

Estas proteínas pueden estar unidas a cobalamina (holoproteína) o libres de cobalamina (apoproteínas).

Almacenamiento y eliminación

El almacenamiento de la vitamina B_{12} se lleva a cabo principalmente en el hígado. La adenosilcobalamina es la cobalamina mayoritaria en todos los tejidos.

La excreción de cobalamina se efectúa mayoritariamente en la bilis, que pasa al interior del yeyuno y, por circulación enterohepática se reabsorbe en el íleon. Pequeñas cantidades de la vitamina entran en el intestino a través de las secreciones gástrica, pancreática e intestinal, la cantidad que queda sin absorber se elimina por vía fecal.

Funciones fisiológicas

Las enzimas con coenzimas derivadas de la vitamina B12 catalizan tres tipos de reacciones:

- 1– reordenamientos intramoleculares;
- 2– metilaciones, como la síntesis de metionina;
- 3– reducción de ribonucleótidos a desoxirribonucleótidos.

En los mamíferos las únicas reacciones conocidas que dependen de la coenzima B₁₂ son:

Metilación de la homocisteína a metionina: Catalizada por la enzima N⁵ metiltetrahidrofolato-homocisteína metil transferasa que se halla íntimamente relacionada con el metabolismo del ácido fólico y por lo tanto, con el transporte de unidades de carbono, pues está acoplada a la transformación de 5-metil-THF, forma circulante del ácido fólico, en THF. La forma activa de la vitamina B₁₂ en esta reacción es la metilcobalamina y su déficit condiciona una disminución del THF o de cualquiera de sus formas activas intracelulares, pero en especial del N^{5,10} metilen-THF, cofactor fundamental en la síntesis de DNA.

Isomerización del metilmalonilCoA a succinilCoA: Reacción de reordenamiento intramolecular de gran importancia en la reutilización mitocondrial del propionilCoA para la obtención de energía en forma de ATP a través del ciclo de Krebs. Es catalizada por la enzima metilmalonilCoA mutasa, En este caso, la vitamina B₁₂ interviene en la forma de 5' desoxiadenosilcobalamina, que actúa como un transportador intermediario de hidrógeno (H).

Interrelación B₉-B₁₂: Trampa del folato

La relación entre el metabolismo de la cobalamina y el folato se pone de manifiesto por la aparición de una anemia megaloblástica tanto en casos de deficiencia de cobalamina como de folato. Una posible explicación a ello es la llamada "trampa del folato". La conversión de metil-THF en THF es catalizada por la metionina sintasa en una reacción dependiente de la metilcobalamina, que remetila la homocisteína a metionina. La deficiencia de cobalamina interfiere en esta reacción, causando la acumulación de metil-THF, así como la depleción de los otros derivados del folato, implicados en la síntesis de purinas y pirimidinas, entre otras muchas reacciones. Este atrapamiento del folato explicaría la megaloblastosis observada en la deficiencia de cobalamina.

Marcadores y técnicas de determinación

La valoración del estado nutricional de vitamina B₁₂ y ácido fólico debe incluir varios exámenes biológicos. Además de la cuantificación de los niveles séricos de la vitamina, se pueden utilizar otras pruebas funcionales, que orientan no solo del estado de la vitamina B12 sino también de la posible etiología en caso de deficiencia.

Valoración bioquímica

La deficiencia de cobalamina es relativamente común, pero la gran mayoría de los casos muestran una deficiencia subclínica, cuya expresión clínica, fisiopatología y evolución no

es bien conocida, por lo que el diagnóstico depende únicamente de las alteraciones bioquímicas.

La deficiencia subclínica es un estado asintomático en el que los niveles de cobalamina pueden estar normales (o en el límite de la normalidad) pero existe una insuficiencia en algún punto de su metabolismo, que se manifiesta por una alteración en metabolitos intermedios, principalmente ácido metil-malónico (AMM) y homocisteína. En la mayor parte de los casos la causa es desconocida y no está relacionada con una absorción disminuida. Su curso es por lo general lento, aunque variable, pudiendo llegar a producir una deficiencia clínica o remitir espontáneamente.

A pesar de su limitado impacto clínico la deficiencia subclínica es importante por su frecuencia, por la aparición de hallazgos electrofisiológicos que pueden ser sugestivos de cambios neurológicos, y porque una pequeña proporción de esos pacientes asintomáticos evolucionara hacia una deficiencia clínica.

Cuantificación bioquímica de la vitamina B₁₂ sérica total

La cuantificación de la vitamina B₁₂ sérica total inicialmente se basaba en ensayos microbiológicos con bacterias dependientes de vitamina B₁₂ para su crecimiento. Posteriormente se emplearon técnicas de inmunoanálisis utilizando marcaje radioisotópico.

Actualmente, en los laboratorios clínicos se utilizan métodos de inmunoquimioluminiscencia basados en la unión competitiva con factor intrínseco, que requieren previamente la separación de las proteínas de unión y la transformación a cianocobalamina. Son técnicas automatizadas que permiten una cuantificación rápida y de bajo coste, tanto en suero como en plasma, pero con poca especificidad y sensibilidad (sobre todo para la deficiencia subclínica), por lo que se recomienda el uso de otros marcadores metabólicos como la holotranscobalamina, la homocisteína, el ácido metil malónico, y el ácido fólico.

Tradicionalmente se ha utilizado 200 ng/L como punto de corte para definir la deficiencia de cobalamina, basándose en estudios comparativos entre individuos sanos y pacientes con criterios clínicos y hematológicos.

Algunos estudios recomiendan aumentar el punto de corte a 300 o 350 ng/L de cara a incluir pacientes con una deficiencia subclínica. Otros autores consideran que esto no aporta ninguna ventaja, ya que se pierde especificidad sin asegurar la detección de todos los pacientes con deficiencia subclínica. (Ver Tabla 2 al final Y Lamer y el artículo de R Green Indicators Am J Clin Nutr. 2011, 94 suppl) 666s-72s).

En cualquier caso, la ausencia de gold estándar para la determinación de vitamina B₁₂ y la variabilidad según edad, sexo y método de determinación hacen que sean necesarios más estudios para consensuar unos valores de referencia comunes a todos los laboratorios.

Como consecuencia de estas limitaciones se recomienda para establecer el diagnóstico la presencia de manifestaciones clínicas y la alteración de los valores de vitamina B₁₂ en más

de una ocasión, o bien la alteración de 2 o más de los siguientes biomarcadores: homocisteína, AMM, ácido fólico, y holotranscobalamina.

Homocisteína

La homocisteína es un derivado de la metionina y en su metabolismo intervienen las vitaminas B₁₂, B₆ y B₂, y el ácido fólico por lo que es susceptible a cambios en estos cuatro metabolitos y por tanto, es poco específica de déficit de cobalamina.

También es el más susceptible de los 4 biomarcadores a influencias preanalíticas. Se recomienda una centrifugación inmediata para que los eritrocitos no eliminen homocisteína al plasma aumentando falsamente sus niveles.

El aumento de su concentración sérica no solo es orientativo de deficiencia de cobalamina o folato, sino que además es un factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares, complicaciones en el embarazo, malformaciones congénitas y enfermedades psiquiátricas.

Las concentraciones de homocisteína total en plasma o suero son muy bajas por lo que son necesarias técnicas sensibles y específicas para su determinación. Se empezaron utilizando técnicas de intercambio iónico y radioinmunoanálisis, que han sido sustituidas por la cromatografía y el enzimoimmunoanálisis.

Entre los métodos cromatográficos se incluyen la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), con detección de fluorescencia, ultravioleta o electroquímica; la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas y la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

Los métodos inmunoenzimáticos han permitido la automatización por su sencillez y asequibilidad.

La mayoría de los laboratorios consideran una concentración superior a 15 µmol/L como indicativo de la hiperhomocisteinemia, (en poblaciones no fortificadas con ácido fólico en las harinas) aunque no están estandarizados los valores de referencia, por lo que se deben comparar los resultados entre diferentes laboratorios con cautela.

Acido metil malónico (AMM)

El ácido AMM es el sustrato de la metilmalonil CoA mutasa, dependiente de 5'-desoxiadenosilcobalamina, pero independiente del folato, por tanto es el único biomarcador que se eleva frente a alteraciones de la vitamina B₁₂, pero no del folato.

También se puede elevar falsamente en determinadas enfermedades (IR, diabetes, enfermedades hepáticas) y en casos de hemoconcentración, lo que reduce su especificidad. A pesar estas limitaciones es probable que el AMM se convierta en el biomarcador de referencia.

Se determina mediante separación por cromatografía de gases y cuantificación por espec-

trofotometría de masas, y es posible su cuantificación tanto en plasma o suero, como en orina. Su elevado costo es el principal inconveniente para su uso generalizado.

Diversos estudios poblacionales demuestran que la elevación del AMM es más frecuente que la deficiencia bioquímica de vitamina B₁₂. Los puntos de corte determinan la frecuencia pero esta disparidad sugiere una sensibilidad superior del AMM frente a la cobalamina, de hecho unos valores normales de AMM sugieren un metabolismo normal de vitamina B₁₂ aun con bajas concentraciones de esta.

La mayoría de los pacientes con deficiencia de cobalamina muestran valores muy elevados de AMM (en torno a 1000 nmol/L), pero valores inferiores a 270 nmol/L ya son sugestivos de alteraciones en el metabolismo de la cobalamina.

Holotranscobalamina

La vitamina B₁₂ circula en plasma unida a dos proteínas, transcobalamina y haptocorrina. La mayor parte es transportada por la haptocorrina, sin embargo la fracción biológicamente activa circula unida a transcobalamina, formando la holotranscobalamina (TC).

Los estudios que utilizan AMM como marcador de deficiencia se correlacionan mejor con la TC que con la propia cobalamina debido a que la TC tiene una vida media corta por lo que ante un balance negativo de vitamina B₁₂ es la primera en afectarse, mientras que la homocisteína, el AMM, y la cobalamina se alteran cuando ya existe deficiencia celular, por lo que no permiten un diagnóstico tan temprano.

Es un biomarcador estable por lo que no requiere precauciones especiales en la extracción, por eso algunos autores consideran que es el más fiable para valorar el déficit de vitamina.

Existen diferentes métodos para su determinación en suero o plasma: microbiológico, radioinmunoanálisis y procedimientos de inmunoanálisis basados en anticuerpos monoclonales específicos de TC, que son los más utilizados en la actualidad.

La edad, el sexo, determinados genotipos y el método utilizado son las principales fuentes de variabilidad y deben ser consideradas para establecer los intervalos de normalidad. Se consideran valores normales los comprendidos en el intervalo 40-200 pmol/L, pero se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia en base a su población.

Es un buen marcador de deficiencia aguda, pero no es útil para valorar la respuesta al tratamiento, ya que se eleva en el momento en que la cobalamina entra en el torrente circulatorio independientemente de la condición antecedente. Para este fin, los marcadores recomendados son la homocisteína y el AMM.

Acido fólico

El metabolismo de la vitamina B₁₂ y el del ácido fólico están íntimamente relacionados, produciendo su deficiencia una clínica similar.

Es posible determinar tanto el folato total en suero como el eritrocitario, el primero hace referencia a la ingesta reciente, mientras que el segundo indica el estado corporal verdadero.

Existen métodos microbiológicos para la determinación de ácido fólico, pero su laboriosidad hace que queden relegados a laboratorios de investigación. La mayoría de los laboratorios clínicos utilizan técnicas inmunológicas, basadas en la unión competitiva del ácido fólico a la "proteína de unión de folato" (FBP) y sistemas de quimioluminiscencia o fluorescencia.

El desarrollo de la cromatografía líquida-espectrometría de masas (ID-LC-MS / MS) permite una evaluación más precisa, y puede ser utilizada como método de referencia de cara a acordar unos rangos de referencia internacionales.

Convencionalmente se ha definido la deficiencia por valores de folato sérico inferiores a 7 nmol/L (3µg/L), y valores intraeritrocitarios por debajo de 340 nmol/L (150 µg/L).

Otras determinaciones:

Además de la valoración estrictamente bioquímica hay otras pruebas de laboratorio que sugieren deficiencia de ácido fólico y vitamina B₁₂, y que orientan sobre su etiología.

Por un lado, la presencia de neutrófilos hipersegmentados y macrocitos ovoides en la observación microscópica de sangre periférica, así como la elevación del VCM, sugieren una anemia megaloblástica, consecuencia de un estado carencial de cobalamina o fólico.

La prueba de Schilling es un test funcional que valora la absorción intestinal de vitamina B₁₂. En primer lugar se administra una cantidad determinada de vitamina B₁₂ marcada radiactivamente, y se cuantifica la excreción urinaria 24 horas tras la ingesta. Si la excreción es adecuada, se considera que el mecanismo de absorción no está alterado. Si por el contrario, la absorción ha sido inadecuada se realiza un segundo paso que consiste en la administración de vitamina B₁₂ junto con factor intrínseco. Si en este caso los niveles de excreción son los esperados, se entiende que el defecto se debe a una ausencia de factor intrínseco.

Similar a este, pero para la valoración del ácido fólico se utilizaba el test de excreción de ácido formiminoglutámico (FIGLU). El FIGLU deriva del catabolismo de la histidina y sobre el actúa la formiminoglutamato transferasa, enzima folato dependiente, para dar lugar a ácido glutámico.

Al administrar una dosis de histidina, la excreción urinaria de FIGLU debería aumentar, en caso contrario se puede sospechar una carencia de folatos.

Estas dos pruebas fueron muy útiles en los años 60, pero en la actualidad han perdido importancia, dejando paso a técnicas más modernas basadas en la detección de anticuerpos anti factor intrínseco, y anticélulas parietales principalmente mediante quimioluminiscencia.

Deficiencias y toxicidad:

Después del déficit de hierro, la deficiencia de vitamina B₁₂ y de folatos son las causas más importantes de anemia nutricional. Las manifestaciones de la deficiencia derivan de una disminución de la síntesis de ácidos nucleicos alterando la maduración nuclear y afectando preferentemente a células con rápida proliferación.

Los signos y síntomas se observan principalmente a nivel hematológico y en el caso de vitamina B₁₂ además a nivel neurológico. Sin embargo la sintomatología es más probable de ocurrir en deficiencias muy severas.

Sintomatología deficiencias:

- **Anemias megaloblástica:** Cuando el déficit de folatos o vitamina B₁₂ es severo.
- **Afectación del binomio madre-hijo:** Un pobre estado nutricional de folatos se relaciona con embarazos de mala evolución, riesgo de parto prematuro, bajo peso al nacer; por consiguiente mayor riesgo de morbilidad infantil. La deficiencia de vitamina B₁₂ en la mujer embarazada puede afectar el almacenamiento fetal de vitamina B₁₂. Durante la lactancia, los hijos de madres vegetarianas estrictas pueden afectarse gravemente.
- **Defectos del tubo neural:** El mayor beneficio de la suficiencia de folatos durante el período periconcepcional es la prevención de DTN.
- **Manifestaciones neurológicas:** La deficiencia de vitamina B₁₂ puede producir las manifestaciones neurológicas en ausencia de alteraciones hematológicas. También se ha asociado un pobre estado nutricional de vitamina B₁₂ con la progresión de las enfermedades de Alzheimer y Parkinson.
- **Hipermocisteinemia:** Las deficiencias de folatos y vitamina B₁₂ incrementan los niveles de homocisteína que estarán relacionados con las distintas patologías de hiperhomocisteinemia como enfermedad cardiovascular, accidente vascular cerebral, riesgo de eclampsia, preclampsia, nacimientos pretérmino, cáncer y deterioro cognitivo.

Deficiencia ácido fólico

La deficiencia en ácido fólico es difícil de interpretar y presenta numerosos factores de confusión. Por ello, es necesario tener en cuenta toda la información clínica, morfológica y bioquímica para llevar a cabo un diagnóstico correcto sobre la presencia o ausencia de la carencia en ácido fólico.

Cuando los depósitos corporales de folatos son normales, la deficiencia tarda unos 4 meses en desarrollarse. Si hay depleción inicial de los depósitos, la sintomatología aparece a los 2 ó 3 meses. Los síntomas y signos de la carencia revierten o mejoran con la administración de ácido fólico, siempre que las lesiones, sobretodo de tipo neurológico, no sean ya irreversibles.

Clasificación Deficiencias

La carencia de folatos se produce especialmente en ciertas poblaciones de riesgo y bajo una serie de circunstancias especiales como la mujer embarazada, las personas de edad avanzada, los recién nacidos y en especial los prematuros.

También se da en patologías que afectan al tracto intestinal como la enfermedad de Crohn, la enfermedad celíaca, la colitis ulcerosa y la resección intestinal, el alcoholismo crónico y el cáncer.

La carencia de vitamina B₁₂ puede inducir deficiencia en folatos por la trampa del folato.

Ciertos fármacos interfieren con la absorción o el metabolismo del ácido fólico dando lugar a la anemia megaloblástica característica de la carencia en folatos. En algunos casos, la interacción con el metabolismo del ácido fólico se produce como consecuencia del propio mecanismo de acción del fármaco: metotrexato, trimetoprim, pirimetamina y triamtereno son inhibidores de la dihidrofolato reductasa. En otros casos, el efecto antifolato es un efecto secundario y muchas veces de carácter desconocido.

Deficiencia MTHFR:

La MTHFR cataliza la reducción de metilenotetrahidrofolato, esta reacción no es reversible, los folatos pueden retornar a la reserva de folatos reducidos funcionales que se necesitan para el metabolismo de purinas y pirimidinas solo a través de la reacción dependiente de cobalamina de metionina sintasa.

La deficiencia severa de esta enzima es la más común de los errores de folato en recién nacidos. Los hallazgos de laboratorio más comunes son hiperhomocistinemia e hipometioninemia porque no hay deficiencia de metilen-THF por tanto los pacientes con deficiencia severa de MTHFR no tienen anemia megaloblástica. Esto ayuda a diferenciar a pacientes con deficiencias CbIE y CbIG.

La presentación clínica puede ocurrir a cualquier edad, y los hallazgos predominantes son retraso del desarrollo, síntomas neurológicos con apnea y convulsiones, que provienen de los niveles bajos de metionina en el cerebro. Algunos pacientes permanecen asintomáticos y sólo se descubre a raíz del estudio familiar.

El gen se sitúa en el cromosoma 1p36.3. El polimorfismo más común es el 677C-T, llamado **alelo T**, que resulta del cambio de una alanina a una valina. Este polimorfismo se encuentra en el dominio catalítico de la enzima.

El segundo polimorfismo respecto a prevalencia es el 298A-C que cambia el glutamato a alanina en el dominio regulador C-terminal.

Existen otros polimorfismos del metabolismo del folato y la cobalamina aunque todavía no se ha estudiado su utilidad.

Modificaciones bioquímicas y morfológicas características de la deficiencia de folato:

- Disminución de la concentración de folato en plasma
- Elevación de los valores de homocisteína en plasma
- Aumento de la tasa de segmentación de los neutrófilos
- Aumento en la excreción urinaria de ácido forminoglútamico
- Disminución de la concentración de fólico eritrocitario
- Macroovalocitosis en sangre periférica y megaloblastia en la médula espinal
- Anemia megaloblástica.

Toxicidad

El ácido fólico no produce toxicidad incluso cuando se ingiere en cantidades que supongan 100 veces los requerimientos mínimos. Por su carácter hidrosoluble, las cantidades ingeridas en exceso tienden a ser eliminadas en orina y no a acumularse en los tejidos como ocurre en el caso de las vitaminas liposolubles. Por ello, no se han descrito efectos tóxicos de la vitamina cuando se ingiere a través de la dieta.

Cuando el ácido fólico se ingiere en forma de suplemento farmacológico pueden darse reacciones adversas en ciertas situaciones. Entre ellas cabe destacar:

- Efecto convulsivante en pacientes en tratamiento con anticólvulsivantes ya que el ácido fólico y estos fármacos se inhiben mutuamente en la captación por la membrana de las células intestinales y quizá también por la membrana de las células cerebrales.
- Enmascaramiento de la deficiencia en vitamina B₁₂. Quizás una de las complicaciones más graves que pueden darse pues los suplementos de ácido fólico pueden enmascarar el diagnóstico de la anemia perniciosa.

Deficiencia Cobalamina

Además de la anemia megaloblástica, los síntomas más comunes de la deficiencia de vitamina B₁₂ son debilidad, cansancio, disnea, esplenomegalia, leucopenia, trombocitopenia, aclorhidria, parestesias, cambios neurológicos, pérdida de apetito y de peso.

La excreción de ácido metilmalónico, está aumentada en pacientes con deficiencia de cobalamina debida a una anemia perniciosa clásica. También existe una excreción aumentada de homocisteína en pacientes con deficiencia de cobalamina.

La prevalencia de la deficiencia de vitamina B₁₂ en tiene una gran variabilidad dependiendo del punto de corte empleado. Para un punto de corte de vitamina B₁₂ sérica < 148 pmol/L en sujetos mayores de 65 años es del 8,5 %. Los adultos mayores representan el grupo de mayor riesgo debido a una atrofia paulatina de la mucosa gástrica asociada a mayor edad. Los vegetarianos estrictos y los lactantes nacidos de madres deficientes en vitamina B₁₂ constituyen grupos de alto riesgo.

Deficiencia marginal de cobalamina

Se define como elevación de un nivel de metabolito usualmente en paciente asintomático con bajos o normales niveles de cobalamina. Es prevalente en la vejez y ha sido asociado con malaabsorción de cobalamina.

Resistencia a Cobalamina

Niveles altos de ácido metil malónico a pesar de un nivel sérico de cobalamina normal se puede explicar por la insensibilidad de cobalamina sérica, proteínas de unión a cobalamina anormales o falta de especificidad de la elevación de AMM para la deficiencia de cobalamina.

Alternativamente también puede reflejar una "resistencia a cobalamina" definida como la corrección de niveles metabolito anormal en sujetos con valores normales de cobalamina en tratamiento con dosis farmacológicas de cobalamina. Esto es debido al papel del riñón en la regulación del metabolismo de la cobalamina. Esta resistencia a cobalamina en diabetes, insuficiencia renal y edad avanzada puede reflejar la alteración de la función renal en todas estas enfermedades o desordenes.

En otros casos puede existir una resistencia local a la cobalamina como en desordenes nerurocognitivos.

Clasificación Deficiencias

A. Estados carenciales

Aunque son raros en poblaciones de países desarrollados, pueden estar causados por una dieta vegetariana estricta, sobre todo en períodos de mayores requerimientos, como la lactancia, sobre todo en los lactantes de madres vegetarianas estrictas.

En ausencia de ingesta de vitamina B₁₂, las reservas del organismo son suficientes para cubrir sus necesidades durante 5-7 años, pasados los cuales pueden empezar a aparecer signos de deficiencia.

B. Defectos de absorción y transporte de la vitamina B₁₂

Estos defectos se sospechan ante una anemia megaloblástica asociada a un retraso de crecimiento, que muestra una aciduria metilmalónica con hiperhomocisteinemia/ homocistinuria. Los síntomas neurológicos pueden aparecer más tarde. La vitamina B12 sérica es deficiente, excepto en el caso de la deficiencia de transcobalamina que puede ser normal (Tabla 2).

a) Defecto de factor intrínseco (FI): El defecto de secreción del FI causado por una insuficiencia gástrica es la causa más habitual de malabsorción de cobalaminas, causante de anemia perniciosa. También puede originarse un fallo de secreción del FI a causa de una gastrectomía o por destrucción de la mucosa gástrica.

La deficiencia primaria o congénita de FI, poco frecuente, puede ser originada bien por un defecto de síntesis de FI o bien por una síntesis de proteína anómala, sin actividad biológica. Dicha proteína anómala puede tener una afinidad reducida por la cobalamina, por la cubilina o mayor susceptibilidad para la proteólisis.

b) Defecto del receptor del FI o Síndrome de Imerslund-Grasbeck: La malabsorción puede ser debida primariamente a un defecto del receptor específico del FI-cobalamina, la cubilina, conocido como síndrome de Imerslund-Grasbeck. Se presenta entre 1-5 años de vida, con una anemia megaloblástica, habitualmente asociada a proteinuria, que responden a la vitamina B₁₂ administrada por vía parenteral.

Secundariamente, cuando los receptores específicos para el complejo FI-Cobalamina se pierden o alteran debido a enfermedades como la enfermedad celíaca, sprue tropical, etc...

c) Deficiencia de transcobalamina II: Se presenta en el primer o segundo mes de vida con fallo de desarrollo, vómitos, debilidad, anemia megaloblástica, a veces, deficiencia inmunológica y afectación neurológica. La cobalamina sérica es normal, a diferencia de los defectos de absorción en los que estaba deficiente.

C. Errores congénitos del metabolismo celular de la cobalamina

Los defectos del metabolismo celular de la vitamina B₁₂ se manifiestan clínicamente y bioquímicamente de forma mucho más graves que los defectos de absorción y transporte.

Los defectos que afectan únicamente a la síntesis de adenosilcobalamina, normalmente, originan una cetoacidosis metabólica en el recién nacido o en el periodo de infancia, con aciduria metilmalónica. Las deficiencias que implican únicamente la metilcobalamina se presentan con anemia megaloblástica y signos neurológicos acompañados de una homocistinuria e hipometioninemia. Las deficiencias que implican a las dos coenzimas producen una combinación variable de signos y síntomas.

Defectos de síntesis de adenosilcobalamina (Cbl A y B)

En la variante CblA existe un defecto en la reducción intramitocondrial de Cbl⁺⁺ en Cbl⁺, mientras que la variante CblB es causada por un defecto de síntesis de adenosilcobalamina.

Ambos defectos dan lugar a unas manifestaciones clínicas similares a las de la aciduria metilmalónica por deficiencia de la metilmalonil CoA mutasa, cetacidosis grave en el período neonatal, con un intervalo libre de pocos días, con hiperamonemia, hipoglicemia, hiperglicinemia, hipocalcemia y citopenia. La excreción masiva de ácido metilmalónico se asocia a veces a la de ácido propiónico y sus metabolitos.

Defectos de remetilación de la homocisteína (Cbl E y G)

Ambas variantes causan un defecto de función de la enzima metionina sintasa: la variante

CblG está causada por un defecto de la actividad de dicha enzima, mientras que en la variante CblE existe un defecto de la reductasa capaz de activar la metionina sintasa.

Defectos combinados de metil y adenosilcobalamina (Cbl C, D y F)

Estas variantes llevan a una síntesis alterada de las dos formas activas de la cobalamina, metilcobalamina y adenosilcobalamina, y por tanto, existe una actividad deficiente de la metilmalonil CoA mutasa y de la metionina sintasa, por lo que los pacientes presentan aciduria metilmalónica con homocistinuria.

La CblF está causada por un defecto del transportador específico de la cobalamina del lisosoma celular, lo que causa la acumulación intralisosomal de la vitamina.

Las variantes CblC y D corresponden a una etapa post-lisosomal del metabolismo de la cobalamina, probablemente a un defecto de una reductasa del Cbl+++ citosólico a Cbl++.

El tratamiento requiere la combinación de las terapias utilizadas para las deficiencias individuales de coenzimas, acompañadas del tratamiento habitual de la aciduria metilmalónica (carnitina y restricción proteica, específicamente de los aminoácidos precursores: treonina, valina, metionina y isoleucina), así como del tratamiento de los defectos de remetilación de la homocisteína (folato y betaína).

Defecto	IF, SIG	T- II	CblA	CblB	CblC, D	CblF	CblE, G
Cobalamina	↓↓	N, ↓	N	N	N	N	N
VCM	↑	↑	N	N	↑	↑	↑
Folato	N	N	N	N	N	N	N
Homocisteina (s,o)	↑↑	↑↑	N	N	↑↑	↑	↑↑
AMM(o)	↑↑	↑↑	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑	↑↑	N
Metionina (s)	N, ↓	N, ↓	N	N	↓	↓	↓
Cistina	N	N	N	N	N	N	N
Ciscationina(o)	N	N	↑↑	N, ↑	↑↑	↑	N, ↑

Tabla 1: Alteraciones analíticas en los defectos de cobalamina de distinto origen genético.

D. Deficiencia de cobalamina causada por fármacos

La absorción de las cobalaminas resulta alterada secundariamente por el ácido p-aminosalicílico, colchicina y neomicina. Las biguanidinas, metformina y fenformina, que se utilizan para el tratamiento de la diabetes también afectan a la absorción de cobalamina.

Se ha descrito absorción reducida de las cobalaminas debida al cloruro potásico.

También se han observado cambios megaloblásticos después de la ventilación con óxido nitroso.

Toxicidad

La ingestión de vitamina B₁₂ en cantidades superiores a las necesarias o superiores a las absorbibles no parece tener efectos perjudiciales.

La cianocobalamina administrada por vía parenteral generalmente es inocua y raramente se presentan reacciones alérgicas. No existe información acerca de posibles propiedades carcinógenas o mutógenas de la cianocobalamina, ni se han descrito efectos teratógenos.

Los valores de referencia de deficiencia se muestran en la Tabla 2

Vitámero	unidades	Deficiente	Marginal	Adecuado	
Folato sérico	nmol/L	<7,0	7-10	>10	
	ng/mL	<3,0	3-4,4	>4,4	
	Intraeritrocitario	nmol/L	<305	305-340	>340
		ng/mL	<134	135-150	>150
Vit B-12	pmol/L	<150	150-221	<221	
	pg/mL	<200	200-300	>300	
				<210	
MMA	nmol/L	>370			
HoloTC	pmol/L	<35			

Tabla 2: Y Lammers. Indicators for folate b-12 b-6... Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2011.

BIBLIOGRAFÍA

Alonso E, Varela G. Brain folates and a DNA methylation in rats fed a choline deficient diet or treated with low doses of methotrexate. Int J Vitam Nutr Res 1996, 66(3) : 232-6

Alpers DH, Clouse RE, Stenson WF. Manual de Terapéutica Nutricional. 2ª Edición. Salvat Editores, S.A. Barcelona (España). 1990

and methotrexate treatment induces marked but reversible changes in

Blanco F, Deulofeu R, Vilaseca MA, Chacon P, Dulín E. Determinación de homocisteína en plasma: metabolismo, metodología, interpretación de resultados y papel en la evaluación del riesgo vascular. *Química Clínica* 2002;21;243-50

Bradford GS, Taylor CT. Omeprazole and vitamin B12 deficiency *Ann Pharmacother.* 1999 May;33(5):641-3. Review.

Deulofeu R, Vilaseca MA, Pastor MC. *Vitaminas Hidrosolubles Vol I.* SEQC 2005

Fowler B. Genetic defects of folate and cobalamin metabolism. *Eur J Pediatr.* 1998;157 [Suppl 2: S60-S66

hepatic folate concentrations, serum homocysteine and DNA methylation

JR Lam et al. Proton pump inhibitor and histamine 2 receptor *JAMA* 2013, 310, 2435-42

Le Grusse J, Watier B. Vitamine B9. Acide Folique. En: *Les Vitamines. Données biochimiques, nutritionnelles et cliniques.* Centre d'étude et d'information sur les vitamines. Neuilly-sur-Seine Cedex, Francia, 1993; p:233-253

Le Grusse J, Watier B. Vitamine B9. Acide Folique. En: *Les Vitamines. Données biochimiques, nutritionnelles et cliniques.* Centre d'étude et d'information sur les vitamines. Neuilly-sur-Seine Cedex, Francia, 1993; p:233-253

rates in rats. *J Am Coll Nutr.* 1995;14:480-5.

Sagar M, Janczewska I, Ljungdahl A, Bertilsson L, Seensalu R Effect of CYP2C19 polymorphism on serum levels of vitamin B12 in patients on long-term omeprazole treatment. *Aliment Pharmacol Ther.* 1999 Apr;13(4):453-8.

Varela-Moreiras G, Ragel C, Pérez de Miguel sanz J. Choline deficiency and methotrexate treatment induces marked but reversible changes in hepatic folate concentrations, serum homocysteine and DNA methylation rates in rats. *J Am Coll Nutr.* 1995;14:480-5.

Y Lammers. Indicators for folate b-12 b-6... *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2011.

EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells, B. Battikhi (*Residente*), R. Deulofeu, M. Gassó, N. Giménez, J.A. Lillo, A. Merino, A. Moreno, A. Peña (*Residente*), M. Rodríguez (*Presidente*), N. Rico, MC. Villà.

ISSN 1887-6463 – Mayo 2016 (recibido para publicación Septiembre 2015).